



TITLE:

Numerous niches for
hematopoietic stem cells remain
empty during homeostasis(
Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shimoto, Manabu

CITATION:

Shimoto, Manabu. Numerous niches for hematopoietic stem cells remain empty during homeostasis. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-07-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20618>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	下 戸 学
論文題目	Numerous niches for hematopoietic stem cells remain empty during homeostasis （骨髄には、多くの占有されていない造血幹細胞ニッチが存在する）		
（論文内容の要旨）			
<p>造血幹細胞（以下、HSC）はニッチと呼ばれる骨髄内の特別な微小環境に局在し維持され、全ての血液細胞を生涯にわたり産生する。また同種造血幹細胞移植は造血器悪性腫瘍の有力な治療法であり、貧血症、先天性骨髄不全症候群、免疫不全症、自己免疫疾患、後天性免疫不全症候群などの非悪性血液疾患においても効果が期待されている。しかし骨髄内の HSC ニッチは内在性 HSC によって占拠され飽和しており、移植 HSC を生着させるためのニッチを確保するためには全身への毒性が高く患者への負担が大きい前処置により内在性 HSC を減らす必要があると考えられている。それは、これまで純化した HSC を骨髄への前処置を行わないマウスに移植してもほとんど生着しなかったため、骨表面に存在する骨芽細胞など HSC と同様に少数の細胞が HSC ニッチを形成していると考えられていたからである。しかし、近年、骨芽細胞の HSC 維持への関与を否定する報告が相次ぐ一方で、HSC より細胞数が著明に多い CXC chemokine ligand(CXCL)12-abundant reticular cells(以下、CAR 細胞)や血管内皮細胞が、HSC の維持に必須である stem cell factor(以下、SCF)や CXCL12 を産生し、HSC ニッチを形成していることが示されている。そこで、改めて HSC ニッチが飽和し、移植された HSC が生着する場所がないのか否かを検証した。</p> <p>8-11 週齢の CD45.2 C57BL/6 マウスから採取した骨髄細胞から、既報より多数の HSC(CD34⁺CD48⁺LSK)を純化し、8-11 週齢の CD45.1xCD45.2 C57BL/6 マウスに前処置を行わずに静脈内注射により移植し、13-16 週後に両側大腿と脛骨を解析した。その結果、内在性 HSC 細胞数は低下せず、移植した HSC の大部分は骨髄内に生着し、HSC 細胞数は移植しないマウスの約 2 倍となり、内在性 HSC と同様に血液細胞を産生した。一方、移植 HSC から分化した骨髄球系前駆細胞(以下、GMP)は HSC と同様のキメリズムを呈したが、内在性 GMP を置換し、その総細胞数は増加しなかった。Lin⁻細胞を純化し前処置を行わないマウスに移植したところ、移植 HSC と内在性 HSC は移植後 2 週目から 16 週目にかけて同様に増幅し、HSC 細胞数は移植しないマウスの約 3 倍となった。テトラサイクリン発現誘導システムを有する TetOP-H2B-GFP マウスにドキシサイクリン(以下、Dox)を投与すると HSC の局在を組織学的に観察できる。純化した HSC を PKH26⁺で染色して、Dox を投与後 20 週目の TetOP-H2B-GFP マウスに移植し、2 日後に骨髄切片を蛍光顕微鏡で観察したところ、移植 HSC は内在性 HSC とは離れた場所に局在していた。次に、CD45.2 TetOP-H2B-GFP マウスから採取した Lin⁻細胞を CD45.1xCD45.2 TetOP-H2B-GFP マウスに移植して 1 週間から Dox を投与し、移植後 27 週目に骨髄切片を観察した。移植 HSC は内在性 HSC とは離れた場所に生着し、CAR 細胞と接着していた。8 週齢の CD45.2 C57BL/6 マウスの Lin⁻細胞を CAR 細胞で SCF を欠損する 8 週齢の CD45.1xCD45.2 Lepr-Cre;SCF^{f/f} マウスに移植したところ、ドナーと内在性の HSC が減少し、HSC の骨髄での生着には CAR 細胞が産生する SCF が必須であることが示された。</p> <p>以上より、移植した HSC の大部分が、前処置なしで内在性 HSC を減少させることなく生着することが示された。移植 HSC と内在性 HSC が単独で互いに離れた CAR 細胞に接着していたことより、全ての CAR 細胞が HSC ニッチを構成することが示された。HSC が生着し増幅するニッチは、HSC の細胞数より遥かに多いことが示されたため、HSC の</p>			

<p>細胞数の調節は、ニッチ構成細胞の細胞数で説明できず、今後の重要な問題である。一方、GMP のニッチは飽和している可能性が示されたが GMP の細胞数を制御するメカニズムも不明である。本研究によって、HSC のニッチや生着に関する新しい概念が確認され、移植する造血幹細胞を in vitro や in vivo で増幅させたり、レシピエントの免疫反応を回避したりする方法等により、前処置を行わない造血幹細胞移植法を発展させ、その適応を大きく拡大できる可能性が提示された。</p> <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>従来、骨髄内の HSC(造血幹細胞)ニッチは少数で、内在性 HSC により占有され飽和しているため、移植した HSC を効率良く生着させるためには、全身への毒性が高い前処置により内在細胞を枯渇させ、HSC ニッチを確保することが必要であると考えられていた。しかし、近年、HSC より細胞数が著明に多い CAR 細胞や類洞内皮細胞が HSC ニッチを形成していることが示されている。</p> <p>本研究では、HSC ニッチが占有され飽和しているか否かを明らかにするために、既報よりはるかに多数の純化した HSC を前処置を行わないマウスに移植した。その結果、内在性 HSC は減少せず、移植 HSC の大部分が生着することが示された。また、移植 HSC と内在性 HSC とが単独で互いに離れた CAR 細胞に接着しており、全ての CAR 細胞が HSC ニッチを構成していることが示唆された。本研究によって、骨髄には多くの占有されていない HSC ニッチが存在することが明らかになった。これより、前処置を行わない造血幹細胞移植法の適応を大きく拡大できる可能性が提示された。</p> <p>以上の研究は HSC の生着と維持に関する新しい概念の創出に貢献し、血液学、幹細胞生物学に加えて、移植医療の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 6 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			